



**University of  
Zurich**<sup>UZH</sup>

**Zurich Open Repository and  
Archive**

University of Zurich  
University Library  
Strickhofstrasse 39  
CH-8057 Zurich  
[www.zora.uzh.ch](http://www.zora.uzh.ch)

---

Year: 2000

---

## **Gametophytes and Pollen Tube Guidance; From Genetics to Development and Evolution**

Shimizu, Kentaro K

Other titles: 12 —

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich

ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-76557>

Book Section

Originally published at:

Shimizu, Kentaro K (2000). Gametophytes and Pollen Tube Guidance; From Genetics to Development and Evolution. In: Okada, Kiyotaka; Machida, Yasunori; Matsuoka, Makoto. New edition: molecular mechanisms determining plant morphology. Tokyo: Shokabo, 173-184.

## 2 章

器官の発生・  
分化・成熟

## 4-d

## 配偶体と花粉管ガイダンス—遺伝学から発生・進化へ—

Gametophytes and Pollen Tube Guidance ; From Genetics to Development and Evolution

清水健太郎

Shimizu Kentaro

京都大学大学院 理学研究科 生物科学専攻

## KEY WORDS

雌性配偶体, 花粉管, アポミクシス, シロイヌナズナ, 陸上植物の多様性

配偶体は植物有性生殖で中心的役割を果たすが、遺伝学的解析はほとんど行われてこなかった。最近、半数体の遺伝学を巧みに利用することで、シロイヌナズナから多くの突然変異体が単離された。突然変異体の解析は、花粉管ガイダンスやアポミクシスを、“個体”たる配偶体・孢子体同士の相互作用として眺める視点を支持している。この視点から、配偶体の進化・生態についても考えてみたい。

## はじめに

植物発生学(胚発生学; Plant Embryology)は、花粉管を中心に展開してきたといっても過言ではない。花粉管が精細胞を運んで重複受精が起こるということが確認されるまでには長い曲折があった。

植物の性の存在は、ある意味では古代から知られていた。紀元前5世紀のアラブ・アッシリアの儀式で、ナツメヤシの雄の木からとった花序(花のふさ)を、聖職者が雌の花序に触れさせていたことが、ヘロドトスによって記されている。しかし、この合理的な掛け合わせは忘れ去られ、学問的に植物の雌雄性が検討されたのは17世紀以降である。花粉管は、1824年にイタリアの数学者・天文学者・顕微鏡製作者のアミーキ(Giovanni Battista Amici)が、柱頭を観察していたときに偶然発見された。花粉管が柱頭から花柱を通り子房までの長い道のり

をたどり着くという現象は、当時の人には信じられなかったらしく、柱頭で花粉管が割れて精子が泳ぎ出すとか、柱頭と子房の管はつながっていない別物だといった説も登場した。花粉管が胚嚢(雌性配偶体)まで到着することが確認されたのは、1830年にアミーキ自身によってであった。

細胞説で有名なシュライデン(Matthias Jakob Schleiden)は、アミーキの観察を確認したが、その想像力で見えないものまでも見てしまった。胚嚢は入れ物にすぎず、花粉管の先端がその中で胚になる、というのである。彼の説は植物の雌雄性を否定するにもかかわらず多くの支持を集め、反対するアミーキは馬鹿にされた。真実が認められるまでには20年以上を要し、敗れたシュライデンは植物の研究から完全に身を引き、歴史と哲学を教えることとなった<sup>1)</sup>。

重複受精<sup>\*1</sup>がみつかったのは、ようやく19世紀末である。動物発生学では、ゴカイの全細胞系譜が明らかになり、また、ルーがカエルの2細胞胚の片方をつぶして片側オタマジャクシを観察した、という時代である。植物では受精にまつわるさまざまなイベントが雌ずい内で起こるため外から観察できず、観察も実験も困難に直面していた。

20世紀に入って観察結果が蓄積すると、植物の進化・系統を考えるうえで生殖形質の比較発生学が注目されるようになった。動物の門や綱の分類では体節の数などが重視されるが、植物では、生殖に関する形質、

## \*1 重複受精

被子植物特有の受精形式。花粉管には2つの精細胞が入っている。片方の精細胞と、雌性配偶体の卵細胞とが合体(受精)して胚を作る。もう1つの精細胞は、雌性配偶体の中央細胞と合体して胚乳(胚に養分を供給する組織)を作る。

\*2  $2n, n$ 

核相を表す。 $n$ は染色体数で、シロイヌナズナでは5である。 $2n$ は体細胞の状態であり、両親から1つずつの遺伝子セット(ゲノム)を受け継ぐため、それぞれの遺伝子を2つずつもつ。植物では孢子体、二倍体などとよばれる部分で、被子植物では大部分の細胞が属する。 $n$ は、減数分裂により遺伝子を1セットしかもっていない状態。大部分の動物では、卵と精子のみであり、受精によってすぐに $2n$ に戻る。植物では $n$ になってから体細胞分裂により多細胞の配偶体(半数体)になる。配偶体が卵と精細胞を作る。胚乳は、雌性配偶体の中央細胞の極核( $n$ )2つと精細胞( $n$ )が融合するので $3n$ である。

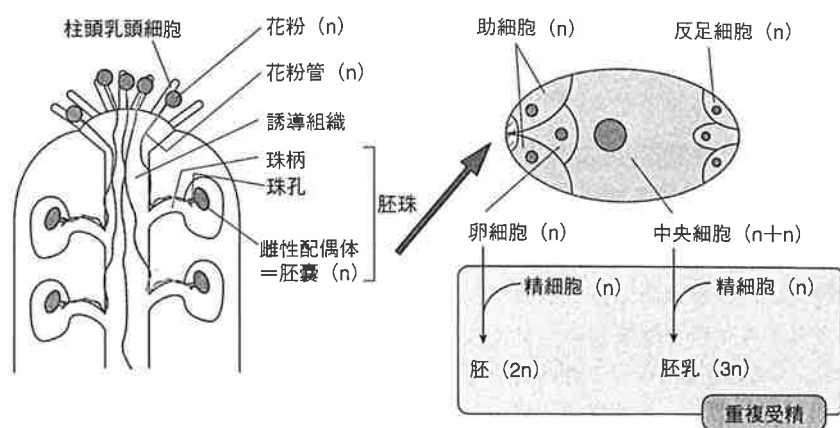


図1 シロイヌナズナの有性生殖

雌ずいの胚珠では減数分裂が起こり、続いて $n$ のままで分裂が進み、7細胞8核の雌性配偶体となる。これは、卵細胞、中央細胞、2つの助細胞、3つの反足細胞からなる。雄ずいの葯では、減数分裂に続く体細胞分裂で $n$ の花粉(2または3細胞)が作られる。花粉は雌ずいの柱頭まで運ばれると、接着・発芽して花粉管を作る。2つの精細胞が、花粉管によって長い道のりを雌性配偶体まで運ばれ、重複受精する。つまり、雌性配偶体の卵細胞( $n$ )が受精して胚( $2n$ )が作られ、中央細胞( $n+n$ )が受精すると胚乳( $3n$ )が作られる。

特に配偶体(雌性配偶体と花粉管)の形質が重要視される。このことは、被子植物、裸子植物、種子植物といった言葉にも端的に現れている。戸部(1994)があげている被子植物の10の特徴のうち、8つが生殖形質(つまり花の形質)、そのうち4つが配偶体の形質である<sup>2)</sup>。20世紀後半には、育種学などの応用と関連して培養技術が進展した。

しかしながら、現在までに分子レベルでの研究や遺伝学を用いた研究は少ない。花粉管ガイダンス分子はみつかっておらず、走化性であるかどうかすら長く論争的である。進化・系統に関しても、動物では体節のアイデンティティを決めるHox遺伝子群を用いることで格段に研究が進んだが、植物ではまだまだである。この分野が今、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)をはじめとするモデル植物の分子遺伝学を用いることで大きく進展し始めた。

本稿ではまず、この進展の要となる半数体の遺伝学と突然変異体スクリーニング法を概説する。そして特に、配偶体と孢子体の間の細胞間・個体間相互作用について述べる。

## 1. 配偶体の突然変異体の非メンデル遺伝学

配偶体の突然変異体を単離するには、突然変異体が非メンデル遺伝を示すことを巧みに利用する(多少ややこしい話であり、1, 2節をとばしても3節以降を読むには支障ない)。まず、有性生殖に関する形態用語を図1にまとめた。ここで注意する点は、5種の遺伝的組成の異なる“個体”が登場することである。すなわち、①親(孢子体,  $2n \times 2$ )、②雌性配偶体(=胚嚢,  $n$ )<sup>\*3</sup>、③雄性配偶体(花粉と花粉管,  $n$ )<sup>\*4</sup>、雌雄の配偶子が融合してできた④胚(次世代の孢子体,  $2n$ )、⑤胚乳( $3n$ )である。“個体”というと違和感があるかもしれないが、原始的な植物では配偶体は独立の個体であり、また胚乳は胚から進化したとも考えられている。つまり、被子植物の有性生殖は、5つの“個体”または“進化的には個体由来するもの”の相互作用によって行われていることになる。異なる遺伝子セットをもつ部分の間では、競争も助け合いも起こりうる。

配偶体の突然変異体の遺伝様式を考えるにあたって、例として、雌性配偶体致死の突然変異をとる(図2)。ヘテロ接合体があると、その遺伝子座に関して野生型と突

<sup>\*3</sup> 雌性配偶体(=胚嚢) female gametophyte (megagametophyte)。コケ植物、シダ植物の配偶体には雌性、雄性、両性の3種類がある。種子植物(裸子植物と被子植物)では、必ず雌性配偶体と雄性配偶体が別々に作られる。特に、被子植物の雌性配偶体を胚嚢(embryo sac)とよぶ。

<sup>\*4</sup> 雄性配偶体(花粉と花粉管)

male gametophyte (microgametophyte)。種子植物の雄性配偶体は、粒状の時期には花粉(pollen grain)、雌ずい上で発芽した後は花粉管(pollen tube)とよばれる。

<sup>\*5</sup> 半不稔性 semisterility。不稔性(sterility)は、次代の植物として発達できる種子がまったく作られないことをいう。半不稔性は、一部の種子(必ずしも半分でない)が作られないことをいう。

<sup>\*6</sup> メンデル遺伝 文脈によってニュアンスは変わるが、メンデルの分離の法則に従う遺伝様式をいう。一般的には、ヘテロ接合体の次世代に、優性形質と劣性形質が3:1で分離する。胚性致死突然変異では、ホモ接合体が失われるため、ヘテロ接合体と野生型が2:1で分離するが、これもメンデルの分離の法則の一変形である。

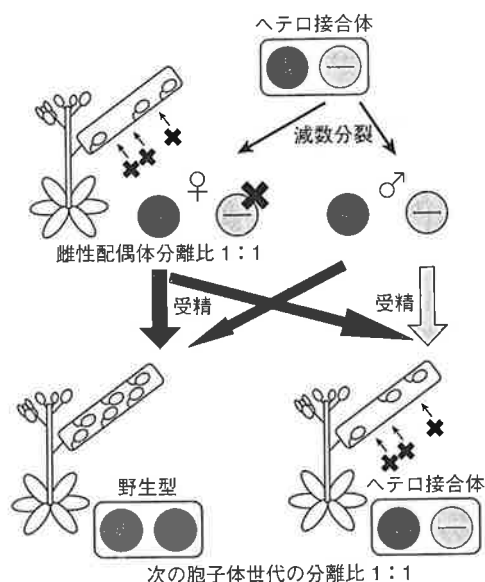


図2 雌性配偶体致死の突然変異体の遺伝様式  
+, - はそれぞれ雌性配偶体致死の遺伝子座における野生型対立遺伝子と致死型対立遺伝子。×印は、雌性配偶体致死のために受精せず、種子が作られなかったことを示す。

突然変異型の対立遺伝子を1つずつもっている。減数分裂後、ある雌性配偶体が2つの対立遺伝子のうちどちらを受け継ぐかは、ランダムに決まる。そこで、半分の雌性配偶体は野生型の対立遺伝子を受け継ぎ、正常に雌性配偶体発生を行い、受精して種子を作る。一方、残りの半分は、突然変異型対立遺伝子を受け継ぐために致死となり、受精も種子形成も行わない。このため、さや(果実)の中で種子数が野生型の半数になり、半不稔性<sup>\*5</sup>を示す。いうならば、雌性配偶体世代での分離比が1:1である。

続いて、次の代(孢子体世代)での分離比を考えてみる。雄性配偶体では特に致死性を示さないとすれば、野生型遺伝子をもつ雄性配偶体と、突然変異型対立遺伝子をもつ雄性配偶体の1:1ずつが正常に発生して次世代に寄与する。これに対して雌側は必ず野生型対立遺伝子をもつ(なぜなら、突然変異型対立遺伝子をもつ場合は致死だからである)。受精が起ると、野生型ホモとヘテロ接合体が、1:1の分離比で作られる。このように、メンデル遺伝<sup>\*6</sup>の分離比からずれる現象を、分離ひずみ<sup>\*7</sup>という。実際の突然変異体としては、漏出性<sup>\*8</sup>のもの、雌

雄両方に致死性がみられるものが多い。これらの場合にも1:1ではないが、分離ひずみがみられる。

## 2. 配偶体の突然変異体のスクリーニング

### ●1. 一次スクリーニング

最近、前述の遺伝様式を利用した突然変異体スクリーニングがシロイヌナズナにおいて多く行われている。以下の3つに分かれるが、一長一短がある。

#### 1) 半不稔性によるスクリーニング

さや(果実)中で種子数が半数になること(半不稔性)を利用して、雌性配偶体の突然変異体を探すスクリーニングである<sup>3),4)</sup>(清水ら;投稿中)。植物体を直接観察すればよく、顕微鏡も不要で素早くできる。

#### 2) 分離ひずみによるスクリーニング

T-DNA やトランスポゾンといった挿入DNA 中にある抗生物質耐性遺伝子の分離ひずみを利用する方法である<sup>5)~8)</sup>。抗生物質耐性は遺伝学的に優性(+/- (ヘテロ)でも耐性)なので、普通のメンデル遺伝であれば、耐性:感受性=3:1である。しかし、挿入DNAが配偶体で必要とされる遺伝子に挿入された場合は配偶体致死となり次世代へ伝わる効率が下がり、耐性:感受性=1:1前後になる(正確な比は、雌雄それぞれがどの程度漏出性かによる)。具体的には、抗生物質を含んだ培地に数十以上の種子をまいて、耐性が半分程度しか現れないラインを選べばよい。また別法として、葉の形態などの可視マーカーを複数もつ系統を突然変異原処理して、可視マーカーが分離ひずみを示す系統を選び出すという方法もある<sup>9)</sup>。その系統は、可視マーカーと染色体近傍に連鎖した配偶体致死突然変異をもっているはずである。1つの染色体に5つほど可視マーカーがあれば、かなり多数の突然変異体がスクリーニングできるようである。

#### 3) 形態観察を指標にしたスクリーニング

雄性配偶体致死の突然変異体をスクリーニングするには、半不稔性は使えない。なぜなら、花粉が雌性配偶体に比べ過剰量存在するので、半数が失われたところで稔性に

### \*7 分離ひずみ

segregation distortion. メンデル遺伝(分離の法則)で期待される分離比が得られないこと。メンデル遺伝では、2つの相同遺伝子が同じ確率で配偶子(卵または精子)に伝わることを仮定しているが、配偶体致死などの場合には、この仮定が崩れる。雌性配偶体が完全に致死の場合には、野生型とヘテロ接合体の分離比は1:1となる。戻し交配(バッククロス)をするとF1(次の孢子体世代)で表現型がみられるが、突然変異体を雄親に用いるか雌親に用いるかで非対称な結果が得られる。雄親の場合には野生型とヘテロ接合体が1:1、雌親の場合には野生型のみがみられる。突然変異型ホモは存在しないので、大抵は孢子体には表現型がみられない。原因遺伝子が孢子体で機能があるかを知りたい場合には、工夫が必要となる。

### \*8 漏出性突然変異

leaky mutation. 同じ突然変異型遺伝子をもっているも、変異表現型を示す個体だけでなく、示さない個体も現れる突然変異。化学的に誘発された突然変異の場合、タンパク質は欠損せず機能が弱まるだけのことも多く(weak allele)、その場合にしばしば現れる。似た機能の遺伝子がほかに存在する場合にも現れうる。雌性配偶体致死の場合の漏出性は、突然変異型雌性配偶体の一部が致死にならず受精して種子を残すことをいう。この場合の次世代の分離ひずみは、より多くの突然変異型対立遺伝子が次代に伝わることから、1:1よりも突然変異体が多くなる。ホモ接合体も現れる。

ほとんど影響が出ないからである。一方で、花粉はすぐに取り出すことができるので観察は比較的容易であり、顕微鏡で直接スクリーニングできる<sup>10), 11)</sup>。これによりみつかった突然変異体数は、分離ひずみによるスクリーニングでみつかったものに比べかなり少ない。この方法は花粉形態が大きく変わる突然変異体の単離に適するが、雄性配偶体致死を多く単離するには適さない。

## ●2. 偽陽性と二次スクリーニング

以上は一次スクリーニングの方法であり、配偶体の突然変異体以外のもの(偽陽性)も多く含まれているので、複数のスクリーニング法を組み合わせたり、戻し交配や形態観察をして確認する必要がある。つまり、以上の条件は必要条件ではあるが、十分条件ではない。どんな偽陽性が存在するのかは、突然変異誘発法によって異なる。

EMS<sup>\*9</sup>などの化学的突然変異誘発剤を使うメリットは、①高率でゲノムに突然変異を誘発できるため、十分な量のスクリーニングを行えること、②遺伝子の機能がある程度損なわれた弱い突然変異が得られることである。しかし、配偶体スクリーニングではこのどちらかが仇となる。半不稔性でスクリーニングする場合に、胞子体性不稔の漏出性変異などさまざまな変異が種子数を減少させ、ノイズとなるのである。筆者の経験では、雌性配偶体致死のほかに、花粉数が減少する変異なども分離してきて遺伝解析に苦労したことがある。今までEMSを用いて成功した例は、可視マーカーの分離ひずみを用いた場合のみであろう<sup>9)</sup>。胞子体突然変異を回避する方法として、M1世代<sup>\*10</sup>を直接スクリーニングする方法もあるが、この場合は雄性・雌性配偶体ともに完全に致死で、次世代にまったく伝わらない変異が非常に多数存在することが障害となる(これらは、細胞が生きていくのに絶対に必要なハウスキーピング遺伝子の変異だと考えられる)。

T-DNA 挿入を利用した場合の偽陽性としては、染色体転座<sup>\*11</sup>による分離ひずみ<sup>12)</sup>が問題になる。T-DNA 挿入系統の10%にも

上る系統が染色体転座を起こしているようで、これは配偶体致死の10倍程度であり非常に大きなノイズである(清水ら;未発表)。そこで、転座系統の排除法はスクリーニングの重要な要素であり、たとえば筆者のグループは花粉形態がつぶれていない系統のみを解析した。同じ挿入DNAでも、トランスポゾンを使うとコピー数が少ないためか、転座がほとんど起こらないようである。

## ●3. 発現パターンからのスクリーニング

突然変異体ではないが、雌性配偶体でもエンハンサートラップ系統<sup>\*12</sup>やジーントラップ系統<sup>\*13</sup>が数十単離されている<sup>13)</sup>。これらは、雌性配偶体の特定の細胞で発現している遺伝子の近傍にマーカーをもったトランスポゾンが挿入され、その細胞が染色されたものである。近傍にトランスポゾンを転移させて、突然変異体を得られる場合もある。また、卵細胞など各細胞の分化マーカーとして、今後広く利用されるだろう。

## ●4. 配偶体突然変異体は非常に多い

これまでに単離された配偶体の突然変異体は数十に上る。配偶体致死では通常の相補性検定<sup>\*14</sup>が不可能であるため、これらすべてが違う座位(遺伝子)の突然変異体ではないと思われる。それにしても、今までに単離された割合からすると、座位(遺伝子)の数は相当に上り、胚性致死の300座位ほどではないにしろ、同じオーダーの座位はあるのではないかと考えられる。

## 3. 雌性配偶体のパターン形成

雌性配偶体の発生(図3A, B)では、まず3回の核分裂で8核のシンシチウム<sup>\*15</sup>になり、続いて細胞化して7細胞となる。つまり、3つの反足細胞、1つの中央細胞(2つの極核をもつ)、1つの卵細胞、2つの助細胞からなる。細胞系譜が記載されていることは、線虫やホヤの研究をみるまでもなく発生研究に非常に有用であるが、植物で細胞系譜がはっきりしているのは根端や配偶体など少数の系に限られている。7細胞という単純な

## \*9 EMS

第3章-3 \*3 参照。

## \*10 M1世代

EMS処理した種子が発芽した植物体。普通の胞子体突然変異体のスクリーニングの場合は、M1では突然変異がヘテロになっていて大部分は表現型がみられないので、M2でホモ接合体が現れた時点でスクリーニングする。配偶体は、ある意味でM1, M2どちらとも違う世代であり、M1植物の花やさやの中でスクリーニングできる。

## \*11 染色体転座

chromosomal translocation. 染色体のある部分が他の部分へ位置を変えたり、他の部分と入れ替わること。減数分裂時には相同染色体同士が対合するが、転座があるとそれに支障を来し、減数分裂後には転座部分を受け継がないために致死になる細胞が現れる。結果として、約半数の雌性配偶体が発生せず、約半数の花粉もつぶれた形態を示す。親の転座した状態をそっくり受け継ぐものと、野生型の染色体のみ受け継いだものは生き残り、前者が次代に転座を伝える。

## \*12 エンハンサートラップ系統

それ自身では遺伝子発現を行うことができない最小限プロモーターに、容易に発現を検出できるマーカー遺伝子をつないだDNA断片を、T-DNAやトランスポゾンを用いてゲノム中にランダムに挿入した系統。ある遺伝子の内部または近傍に挿入されると、その遺伝子のエンハンサーが機能し、遺伝子が発現している細胞でマーカー遺伝子が発現すると期待される。例えば、多数のエンハンサートラップ系統をスクリーニングしてマーカーが卵細胞のみで染まる系統をみつけた場合、挿入遺伝子の近くに卵細胞で発現する遺伝子があると考えられる。

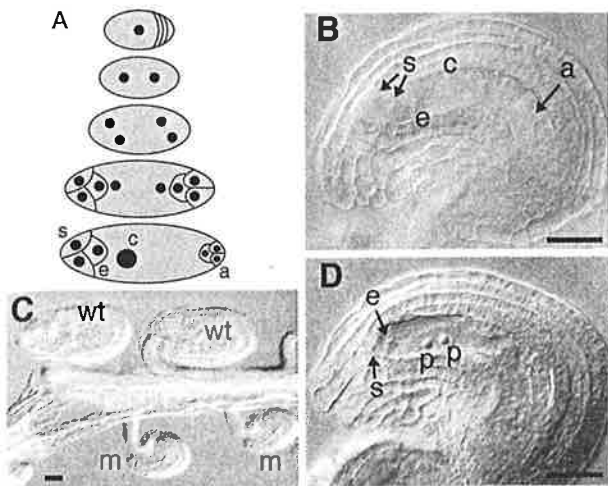


図3 シロイヌナズナの野生型と *magatama* 突然変異体の雌性配偶体 (口絵 38 ページ参照)

A: 雌性配偶体の発生. 左が遠位端. 胚珠での減数分裂の後, 3細胞はプログラム細胞死を迎え, 近位側の1細胞が残る. 3回の核分裂で8核になると, すぐに細胞化し7細胞になる. そして, 中央細胞の2つの極核が融合する一方, 3つの反足細胞は縮退して細胞死する. B: Aの一番下の時期の雌性配偶体. C: 雌性配偶体の突然変異体のスクリーニング. 雌ずいの中で半数の雌性配偶体は野生型であり, 受精して胚発生が進んでいるために肥大している (wt). 残りの半数は, 雌性配偶体の発生異常のため, コンマ型(勾玉型)のステージで停止している (m). こうして単離された雌性配偶体突然変異体を, この形態に基づいて *magatama* (=comma-shaped bead) 変異体と名づけた. D: *magatama1* (*maa1*) 突然変異体の雌性配偶体. 発生が遅れ, 極核の融合が起こっていない. 他の核は焦点外. a: 反足細胞核, c: 中央細胞核, e: 卵細胞核, p: 極核, s: 助細胞核. スケールバーは 50  $\mu$ m.

構造ながら4種類の細胞に分化していることとあわせると, 雌性配偶体は植物の発生研究のモデル系になると期待されている<sup>13), 14)</sup>.

では, 雌性配偶体のパターン形成<sup>\*16</sup>のしくみはどうなっているのか? つまり, どのようにして正しい位置でそれぞれの細胞が分化するのか? 可能性としては, ①ショウジョウバエの初期発生と同様に, シンシチウム内でピコイド<sup>\*17</sup>タンパク質のような濃度勾配が作られている, ②細胞系譜によって決まっている, ③外に接する珠皮からの情報で分化する, などが考えられる. これまでに直接的な証拠はないが, 位置に依存して核が染まるエンハンサートラップ系統が存在すること<sup>13)</sup>, 核の位置が異常になる突然変異体 W26 において, 反足細胞系譜の核が中央細胞的特徴を示すこと (清水ら; 未発表), 珠皮が欠損する孢子体突然変異体でも, ほぼ正常なパターン形成が行われること (清水ら; 未発表) などの間接的な証拠が得られている. これらは, ①すなわち細胞質に位置依存的な分化決定因子が存在することを示唆している. 外からの情報がさほど必要でないことは, 進化的にみれば, 配偶体はそもそも自立生活をして自身でパターン形成していたこととよく合う.

雌性配偶体の突然変異体のうち *prolifera* は, 原因遺伝子がクローニングされている<sup>15)</sup>. 核分裂に異常があるとみられ, 原因遺伝子は DNA 複製の開始に関わる *MCM* (*mini-chromosome maintenance-defective*) と高い

相同性を示した. 雌性配偶体発生には, 発生生物学的・細胞生物学的に興味深い現象があふれていて, それらの突然変異体も単離されている. 極核の融合が起こらない *gfa2*<sup>5)</sup>, 核分裂に異常がある *hadad*<sup>3)</sup>, 発生が遅れる *magatama1* (*maa1*), *maa3* (図 3C, D, 清水ら; 投稿中), まったく発生が進まない *fem2*<sup>6)</sup> などである. トウモロコシ (*Zea mays*) でも突然変異体が報告されている<sup>13)</sup>. 多くが挿入突然変異体であることから, 続々と原因遺伝子がクローニングされて, 植物の細胞周期やパターン形成に多くの知見をもたらすだろう.

#### 4. 花粉管ガイダンスと軸索ガイダンス—道か濃度勾配か—

シロイヌナズナの花粉管ガイダンス<sup>\*18</sup>を観察していると, 非常に効率がよいことに驚かされる. 約 50 個の雌性配偶体のほとんどに, 1 本ずつ花粉管が到達している (図 4). 強調されるべき点は, この現象が遺伝的に異なる 3 つの部分によってなりたっているということ, つまり雄性配偶体 (花粉管) が二倍体の雌ずい組織を通して雌性配偶体にたどり着くことである. 具体的なシロイヌナズナのガイダンス経路は次の通りである. まず, 花粉が柱頭乳頭細胞で発芽し, 柱頭を突き抜け, 誘導組織に入って花粉管の束となる. ここから 1 本ずつ誘導組織表面に出て, 珠柄の上を伸長し, 珠孔に入って雌性配偶体に到達する (図 4)<sup>16)</sup>. この長い道のり

\*13 ジーントラップ系統エンハンサートラップ系統と類似しているが, 最小限プロモーターも使わず, 遺伝子の内部に挿入された場合に発現するように工夫してある.

#### \*14 相補性検定

complementation test. 2 つの劣性ホモの突然変異体と同じ座位 (遺伝子) の変異かどうかを知るには, 掛け合わせた子 (F1) の表現型を調べればよい. 突然変異体表現型を示す場合, 同じ座位である. 配偶体では遺伝子を 1 セットしかもたないため, 配偶体の突然変異体にはホモもヘテロもなく, 相補性検定はできない. 代わりに現在行われている手段は, 突然変異体をマッピングして染色体の違う場所にあれば違う座位だとする方法である. また, 原因遺伝子のクローニング後には, シークエンスなどを調べることで同じ座位かどうか調べることもできる. 四倍体を利用する方法もある.

#### \*15 シンシチウム

多核体. 例えばショウジョウバエの胚発生の初期では, 細胞質分裂が起こらずに核分裂のみ進むために, 1 細胞の中に数千の核が存在する.

#### \*16 パターン形成

第 1 章-1-a \*1 参照.

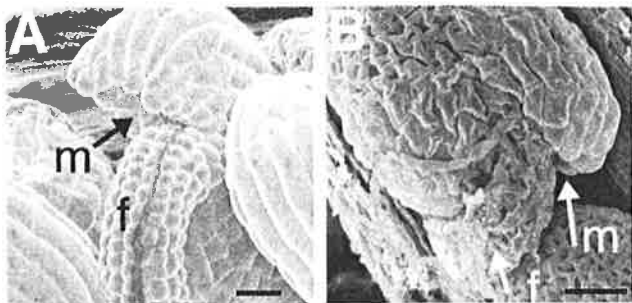


図4 シロイヌナズナの野生型と *magatama* 突然変異体の花粉管(口絵39ページ参照)

A: 野生型において、花粉管はまず珠柄(f)上をほぼまっすぐに伸長し、珠孔(m)近くで向きを変えて、珠孔に入って雌性配偶体に到着する。B: *maa1* 突然変異体の雌ざい中の花粉管。珠柄を伸長してきて珠孔近くまで到達したが、雌性配偶体に到達することができずに付近を迷走している。花粉管をコンピュータ画像上で赤に染色した。スケールバーは20  $\mu$ m。

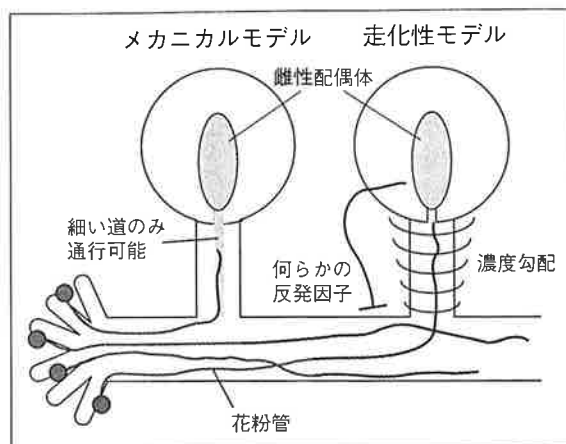


図5 花粉管ガイダンスの2つのモデルと、それぞれで考えられる多精拒否のメカニズム

をどのようにして進むことができるのだろうか？そして、1つの雌性配偶体に1本の花粉管しか向かわない(多精拒否<sup>\*19</sup>)のは、どんなしくみによるのだろうか？

花粉管ガイダンスのメカニズムについては、機能的に同様の現象と考えられる動物神経の軸索ガイダンス<sup>\*20</sup>と同じく<sup>17)</sup>、2つの説が長い間提唱されてきた<sup>18)</sup>(図5)。1つはメカニカルモデル(接触モデル)とよばれ、いうならば“道”に沿って進むというものである。つまり、経路上の細胞表面の形態や細胞接着物質により、通りやすい場所と通行止め場所が作られている、というものである。この説では多精拒否は説明しやすい。定まった狭い“道”があるとすれば、1本しか花粉管が向かわないのも道理である。もう一つの説は走化性モデルである。雌性配偶体に向かって物質の濃度勾配が作られていて、花粉管はその勾配に従って伸長していく、というものである。この場合、多精拒否を説明するためには、何らかの反発因子(花粉管同士の反発または雌性配偶体からの反発)を考える必要があるだろう。

軸索ガイダンスのこれまでの研究を振り返ると、遺伝学と生化学の両者が有効に機能してきた。例えば、動物神経管からの拡散性の軸索ガイダンス因子 Netrin/Unc-6 は、遺伝学的には線虫の軸索ガイダンスの突然変異体 *unc-6* の原因遺伝子として、生化学的

には軸索伸長活性化を指標にニワトリ脳から Netrin として単離された。軸索ガイダンスでは細胞接着物質も知られており、メカニカルモデルと走化性モデルが器官により使い分けられているようである<sup>17)</sup>。

一方、花粉管ガイダンスでは、ガイダンス因子の単離どころでなく、メカニカルモデルと走化性モデルの間で長年にわたって論争が続いている状況である<sup>18)</sup>。 *in vitro* プレート上の花粉管伸長系は昔から実験されており、走化性物質が存在するという主張に結びついてきた。そのなかでカルシウムイオンやTTSタンパク質<sup>19)</sup>などが、走化性物質の候補となった。しかし、 *in vitro* 系には大きな問題点がある。確かに花粉管はプレート上の雌ざい・胚珠の方向へ向かうが、葉の方向へも向かうし、ショ糖にすら向かう。このように特異性のない状況では、花粉管“ガイダンス”でなく、花粉管“伸長”とよぶべきであろう。生化学的に花粉管ガイダンス因子を単離しようと何度か試みられたようであるが、成功例は報告されていない。

現在のところ、カルシウムイオンもTTSタンパク質も *in vivo* (生体内)において走化性因子だとは考えにくく、少なくとも柱頭と花柱(誘導組織)ではメカニカルモデルを示唆する証拠のほうが多い。また、軸索ガイダンスの数値モデルからも、1つの拡散性物

#### \*17 ビコイド

Bicoid. ショウジョウバエの前後軸のパターン形成において、中心的な役割を果たしているホメオボックス因子。 *bicoid* mRNA は前極に集中して分布しており、翻訳された Bicoid タンパク質はシンシチウム中を拡散して前極を頂点とした濃度勾配を作る。その濃度に応じて下流の遺伝子が発現し、次第に細かく位置が指定されていく。

\*18 花粉管ガイダンス pollen tube guidance. ガイダンスとは、ある細胞が長距離はなれたターゲット細胞にまで移動・伸長できるように導くこと。花粉管ガイダンスは、柱頭で発芽した花粉管が、雌ざいの中を通過して雌性配偶体まで誘導されることをいう。

#### \*19 多精拒否

prevention of polyspermy. 本来、動物で使われる語で、卵が受精時にただ1個の精子だけを受け入れ、それ以降の精子の侵入を拒否する現象。ここでは、ある珠柄を通して雌性配偶体に向かう花粉管が通常1本に限られる現象を指す。

質の濃度勾配では1mm以上のガイダンスは難しいという結果が出ているが<sup>20)</sup>、10mmを超える花柱は珍しくない。1986年には、「花粉管の走化性～事実か錯覚か」というタイトルの論文すら出ている<sup>21)</sup>。in vitro 花粉管ガイダンス系は、1998年によく雌性配偶体が胚珠から露出している被子植物 *Torenia fournieri* において確立された<sup>22)</sup>。こうしたなかで、シロイヌナズナ分子遺伝学が使えるようになり、花粉管ガイダンス因子の遺伝学的単離に期待が集まった。

## 5. 父親popと花粉管ガイダンス —二倍体と花粉管の関係—

1996年、花粉管ガイダンスの突然変異体 *pop* (defective in pollen-pistil interactions, 略すと“父親”)が報告された<sup>23)</sup>。誘導組織から出た花粉管は、雌性配偶体に向かうことができず、ランダムに伸長してしまう。そのほかの点、例えば雌ずいの形態、in vitro での花粉管発芽能力・伸長速度などは野生型と違いがないので、ガイダンスに特異的な突然変異体だと考えられた。興味深いのは遺伝様式のややこしさである。まず、*pop* は実際には二重突然変異体であり、*pop2 pop3* 二重変異の時にのみ表現型がみられる。そして、花粉と二倍体雌ずい組織の両者が突然変異体の時にのみ表現型がみられる。つまり花粉を野生型雌ずいに掛け合わせても、その逆でも異常はみられない。これは“自家不稔性”とでもよべる表現型である。また、遺伝学的にみて雌性配偶体は関係ない。

POP 遺伝子産物は何をしているのであろうか？ これらのデータから考えるに、花粉管と雌ずい組織の両者の表面にある細胞接着分子に関わっている可能性がある<sup>24)</sup>。次節のデータも合わせると、現在のところPOPは方向性をもったガイダンスそのものに関わっているというより、ガイダンス分子が機能する前提・足場として、花粉管と雌ずい組織の接着を行っているのではないかと、という意見が強い<sup>25)</sup>。原因遺伝子のクローニングと機能解析が待たれる。

二倍体雌ずい組織と雄性配偶体の関係については、自家不和合性の分子レベルでの

研究が進んでいる。しかし、現在まで二倍体側の因子の研究は進んでいるが、雄性配偶体因子の解明はこれからである(詳しくは総説<sup>26)</sup>を参照)。

## 6. 母親maaと花粉管ガイダンス —よび寄せては遠ざける雌性配偶体—

花粉管ガイダンスのターゲットである雌性配偶体は、雄が来るのをただ待っているのだろうか？ それとも積極的によび寄せているのだろうか？

まず間接的な証拠が、胚珠の形態に異常がみられる突然変異体から得られた<sup>27)</sup>。花粉管は柱頭から誘導組織までは正常だが、誘導組織表面に出てから迷走してしまう。これらは二倍体の胚珠の変異体だが、胚珠の内部に形成されるべき雌性配偶体も二次的に発生異常を示す。そして、雌性配偶体の異常が激しいほど花粉管の到達率が下がる。このことは、雌性配偶体が離れた花粉管に対して誘導作用をもつことを示唆する。

このことは、染色体転座をもつ系統を用いて明確に示された<sup>12)</sup>。染色体転座がある場合、約半数の雌性配偶体が発生しない。重要なことは、遺伝学的・形態学的に二倍体雌ずい組織には異常がないことである。花粉管を観察すると、やはり柱頭から誘導組織までは正常であった。その後は、野生型雌性配偶体をもつ胚珠には、正常に1本ずつ花粉管が向かって受精していた。一方、雌性配偶体が欠けた胚珠には花粉管が向かわない。よって、雌性配偶体は誘導組織からあとの花粉管ガイダンスに必要であるといえる。その作用には2つの可能性が考えられる。1つは雌性配偶体が拡散物質を分泌して直接的に花粉管に作用するという可能性、もう1つは、雌性配偶体が近傍の二倍体雌ずい組織に作用して間接的に花粉管に作用するという可能性である。

以上より、雌性配偶体が必要だとわかったが、多精拒否はどんなメカニズムなのか、それは雌性配偶体によるのか、この部分のガイダンスでは、メカニカルモデルと走化性モデルのどちらが正しいのか、などの多くの疑問が残ったままである。

\*20 軸索ガイダンス axon guidance. 軸索とは、神経細胞にある長い突起のこと。軸索ガイダンスは、動物の脳神経の発生の際に、軸索が結合相手である別の神経細胞や筋肉などの標的に向かって伸長誘導されること。複雑な神経ネットワークの形成に重要である。



雌性配偶体の発生が遅れる *maal1*, *maa3* 突然変異体は、こうした疑問に答える有用な材料である(図4, 清水ら; 投稿中)。花粉管を観察したところ誘導組織まで正常であり、さらに誘導組織を出て珠柄上を伸長するのも正常であった。しかしながら、珠孔に入る直前に道を失ったかのようにランダムな方向に伸長してしまう(図4B)。このことは、雌性配偶体が2段階で花粉管を誘引していることを示す。また、*maal1*, *maa3* 雌性配偶体に対しては、2本の花粉管が向かう率が有意に高くなる。このことは、雌性配偶体が2番目以降の花粉管の到達を抑えていること(多精拒否)を示す。この多精拒否により、雌性配偶体は姉妹の雌性配偶体(半数のゲノムを共有する)の受精を助けることができる(より多くの花粉管を供給できるため)。この“助け合い”は、ハチの姉妹間の利他行動と同様、包括適応度\*21を高めていると考えられる。これは、花粉管競争(精子間競争)と対照的である<sup>28)</sup>。また、野生型における花粉管の経路も詳細に観察したところ、定まった経路はみつからず、それぞれ違った経路で雌性配偶体に到達していることが明らかになった(清水ら; 投稿中)。これは濃度勾配の存在を示唆する。

## 7. 子を食う母メディア

### —アポミクシスとインプリンティング—

雌性配偶体の機能として、卵細胞・中央細胞を作ること、花粉管ガイダンスを行うこと以外に、その後の種子形成の礎となることもあげられる。配偶体に関して、現在分子レベルの研究が最も進んでいるのがこの分野である。

まず、種子はゲノム組成を考えるときわめて複雑な構造をしている。受精で生じた2nの胚が、3nの胚乳と親の2nの種皮に包まれている。これらはnの雌性配偶体と、nの雄性配偶体(花粉管)から作られる。つまり、5種の遺伝的組成の異なる“個体”の相互作用によって起こっていることになる。これらの“個体”はどうやって共存しているのだろうか？ また、利害が対立して競争することはあるのだろうか？ こういっ

た問題に対して、分子遺伝学からの2つのアプローチが融合して新たな世界を開いた。半不稔性を基準に単離された *medea* 突然変異体は、遺伝学的には雌性配偶体異常である<sup>4)</sup>。しかし、受精後の種子発生になって初めて表現型がみられる。受精によって花粉から野生型 *MEDEA* 遺伝子がもたらされても表現型は回復しない。つまりマターナル\*22に異常を示すのであり、ギリシャ神話で子を食べる母親メデアから突然変異体の名がつけられた。細胞レベルで異常を観察すると、胚は分裂しすぎるという異常を示す一方で、胚乳は野生型に比べ細胞数が減少している。*MEDEA* 遺伝子産物は、ショウジョウバエポリコーム遺伝子群\*23にみられるSETドメインをもち、染色体構造の制御に関わる可能性が示唆された。

ところで、受精なしに種子が作られるアポミクシス\*24という現象があり、農業的にも重要である。雄性不稔のバックグラウンドで、花粉なしに種子発生が進む突然変異体を探したところ、*fis1/f644*, *fis2*, *fie/fis3* (アリルと考えられている)の3つが単離された<sup>29)~31)</sup>。半数の種子が肥大してくることなどから、これらは雌性配偶体の突然変異体であるといえる。発生を追って観察してみると、受精なしに胚乳の発生が進み、*fis1*, *fis2*では多少胚発生も進む。これらはアポミクシスとはいえないが、アポミクシスの一部の現象が起こっていると解釈できる。これらは *medea* 突然変異体と逆だとも考えられたが、*fis1/f644* 原因遺伝子がクローニングされてみると、驚いたことに *MEDEA* 遺伝子とまったく同一遺伝子であった<sup>31), 32)</sup>。 *medea* 突然変異体で除雄してみると、胚乳が発生するという *fis/fie* 表現型が確かに観察された。*FIE* 遺伝子は、WDリピートをもつポリコーム遺伝子群の *Esc* (*Extra sex combs*) とホモロジーを示した<sup>33)</sup>。 *FIS2* 遺伝子は Zn フィンガーをもつ転写因子をコードすることが示唆された<sup>31)</sup>。SETドメインをもつ *En(z)*, *Esc*, Zn フィンガータンパク質の3者はショウジョウバエで複合体を作ってクロマチン構造を制御し、遺伝子発現を抑えていることが示されてい

### \*21 包括適応度

inclusive fitness. 自然選択では、自分の子孫をより多く残す個体が生き残るといいうが、アリやハチでは兄弟を助けて自殺する利他行動がみられる。これらの現象は、近縁度の高い兄弟とは多くの遺伝子を共有しているので、利他行動をさせる遺伝子は、兄弟を助けることでより高い頻度で子孫に伝わっていく、と説明される。包括適応度は、近縁個体も含めてその遺伝子が自然選択に有利かどうかを示す尺度である。

### \*22 マターナル

maternal. 母性効果。子の表現型が母親(ここでは雌性配偶体)に影響を受けること。例えば、母親の合成した mRNA が子に運搬されたものをマターナル mRNA という。こうした遺伝子の突然変異体は、親の遺伝子型が子の表現型に影響し、母性遺伝(maternal inheritance)という。

### \*23 ポリコーム遺伝子群

ショウジョウバエ発生において、染色体構造を調節することでホメオボックス遺伝子の発現領域を維持する働きをもつ遺伝子群。*Polycomb*, *En(z)*, *Esc* 遺伝子などが知られている。欠損すると、ホメオボックス遺伝子の発現領域が広がってしまい、体節のアイデンティティに異常が出る。植物のホメオティック遺伝子である MADS-box 遺伝子群の発現抑制に関わる *CURLY LEAF* も、ポリコーム遺伝子群に属する。動物と植物で、独立にポリコーム遺伝子によるホメオティック遺伝子の発現抑制が進化したということ注目集めた。また、線虫において生殖系列の遺伝子発現の抑制の働きをもつ *MEDEA* との共通性が興味深い。

る。MEDEA, FIE, FIS2もコンプレックスを作って同様の機能を果たす可能性が示唆されている(図6)。

MEDEA 遺伝子の発現解析が興味深い<sup>34), 35)</sup>。父親由来の MEDEA はゲノムインプリンティング<sup>\*25</sup>により胚乳では発現しないことが、対立遺伝子間の多型を利用した巧みな解析から示された<sup>35)</sup>。これにより遺伝様式の説明がつき、また突然変異体では胚乳の異常が一次的であって、胚の異常は二次的であることが示唆された。そこで、MEDEA 遺伝子の器官・個体レベルでの機能は、雌が胚乳の過剰な成長を抑える手段であることが示唆された。

哺乳類で知られているゲノムインプリンティングとして、例えば父親由来のゲノムのみが発現する成長因子が知られている。進化生態学から、これを説明する次のような説が提唱されている。そもそも母親と父親の間には利害の対立があると考えられる。すなわち、子にたくさんの栄養資源を供給する母親としては、多くの子供に平等に栄養を供給するのがよい戦略である。しかし、父親としては、自分の遺伝子を受け継いだ子が、違う父親をもつ兄弟より多く栄養資源を使って大きく育ててほしい(つまり、そういう形質をもった父親が自然選択で多くの子を残す)。そこで、父親が子に送り込むゲノムは子の成長を促進するように働き、母親から受け継いだゲノムはそれを抑えようとする。MEDEA 遺伝子の性質は、この説に非常によくあてはまる。花粉を父親、雌性配偶体を母親とみれば、母親が自分の子の資源量を抑えていることになる<sup>4), 35)</sup>。「母親」から継続的に栄養を供給される2つの生物、つまり胎盤をもつ哺乳類と胚乳をもつ高等植物とで、平行進化が起こったとみることができる。

MEDEA 遺伝子自身のインプリンティングは明らかになったが、MEDEA タンパク質の SET ドメインが他の遺伝子の発現を制御しているかどうかはまったく明らかにされていない。哺乳類のデータを考えあわせても、インプリンティングされている遺伝子の数は相当に上るのではないかと考えら

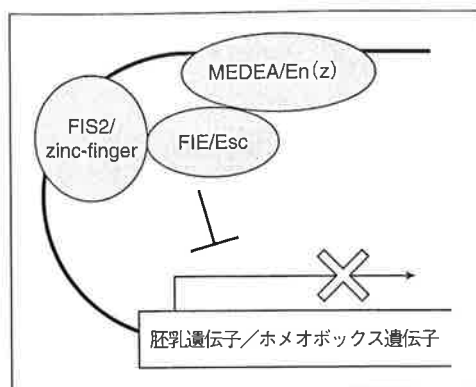


図6 ポリコーム遺伝子群による遺伝子発現抑制のモデル

ショウジョウバエにおいて、En(z), Esc, Zn フィンガータンパク質の3者がDNA上に複合体を形成し、ホメオボックス遺伝子付近の染色体構造を調節して、その発現を抑制することが知られている。MEDEA, FIE, FIS2がこれらとホモロジーを示すため、胚乳の遺伝子発現の抑制でも同様にポリコーム遺伝子群が働くというモデルが提出されている。

れる。また、胚乳だけでなく胚でもインプリンティングが起こっているのだろうか。これからの研究が期待される。

## 8. ソロと双子

### —雄性配偶体の非対称分裂—

非対称分裂は、発生において細胞の多様性を作る基本的なメカニズムであり、線虫やショウジョウバエを用いて分子レベルの解析が進んでいる。雄性配偶体の第一分裂は典型的な非対称分裂である(図7)。非対称分裂のメカニズムとしては、栄養細胞がデフォルトの状態(シグナルなしの場合の基本状態)であり、細胞質因子の非対称な分布により雄原細胞が分化すると考えられている<sup>36)</sup>。

花粉を直接観察することで、非対称分裂に異常を示す3つの突然変異体が単離されている。gemini pollen 1 (gemini = 双子)では、雄性配偶体で対称な分裂が起こり、両細胞とも栄養細胞の性質を示す<sup>11)</sup>。栄養細胞特異的なマーカー LAT52::GUS は、予想通り両細胞で発現していた。GEMINI POLLEN 1 遺伝子の機能はいろいろ予想しうるが、何らかの形で非対称分裂に関わるのであろう。solo pollen では、花粉の非対称分裂が起こらず1細胞のままで止まる<sup>36)</sup>。逆に sidecar pollen では非対称分裂の前に、1回余分な対称分裂が挿入される<sup>10)</sup>。

### \*24 アポミクシス

受精や減数分裂をとまわずに生殖が行われる場合の総称で、単為生殖を含む。

### \*25 ゲノムインプリンティング

遺伝子刷り込み。染色体構造がメチル化などの修飾を受けて、胚の中で片親から由来した遺伝子しか発現しない現象。

雄性配偶体発生では、非対称分裂のほかにも多くの興味深い独特の細胞活動があり、遺伝学的スクリーニングからそれらの突然変異体が単離されている。非対称分裂のうち、雄原細胞は細胞壁からはがれて栄養細胞の内部へ移動するが、*limpet pollen* ではこれが異常である<sup>6)</sup>。*mad2*は雄原細胞の分化に異常を示す<sup>9)</sup>。花粉管伸長が異常な*mad4*<sup>9)</sup>、頂端成長\*<sup>26</sup>の異常で花粉管と根毛に異常がみられる*tip1*<sup>37)</sup>も単離されている。

また花粉管伸長には、Rho ファミリーの small GTPase である Rop1At が関与していることが強く示唆された<sup>38)</sup>。Rho GTPase は動物において細胞骨格を制御しており、神経細胞の軸索の伸長に必要なことがわかっている。ここにも花粉管ガイダンスと軸索ガイダンスの共通点がみられる。

花粉管競争は、半数体に対する自然選択・人為選択の観点から注目され、特に花粉管伸長速度での競争がよく研究されてきた<sup>39)</sup>。ハイビスカス (*Hibiscus moscheutos*) では、メス(雌ずい)がオス(花粉管)を選んでいることが示されており、性選択\*<sup>27</sup>だとみなされる<sup>28)</sup>。また、育種の応用面からの研究も多い<sup>39)</sup>。

## 9. 新たなモデル植物から多様性の進化へ

陸上植物の進化の過程で最も大きく変化したのは配偶体であろう。配偶体の小型化は顕著である。まず、コケ植物の配偶体は大型で、普段みかけるコケそのものである。シダ植物では前葉体とよばれるハート型の個体が独立生活を行っているが、小さいので野外でみつけるのは少々難しい。裸子植物では、花粉管と種子(珠皮に包まれて親から離れない雌性配偶体)が登場する。走化性の花粉管ガイダンス因子が、*in vitro* のデータとともに形態学的データで示唆されているのが興味深い<sup>40)</sup>。そして、被子植物に至って極端に小型化した。前述のように、雌性配偶体が7細胞、雄性配偶体が3細胞である。

シダやコケの配偶体が、分子遺伝学の新たなモデル植物として確立しつつある。こ

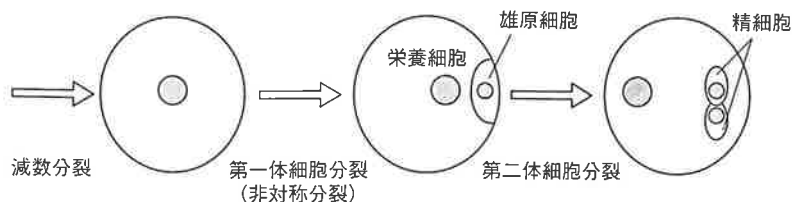


図7 雄性配偶体(花粉)の発生

第一分裂は非対称分裂である。大きいほうの細胞が栄養細胞となり、大きな核をもって花粉管形成のための盛んな代謝を行う。小さいほうの細胞は雄原細胞であり、染色体が凝縮し、続く細胞分裂で2つの精細胞を生み出す。

れまでのモデル植物は被子植物に限られていたが、原始的植物を用いることができれば植物の幅広い理解につながることは疑いない。シダ植物のリチャードミズワラビ (*Ceratopteris richardii*, 図8) は、ライフサイクルが3カ月とシダには例外的に短く、遺伝学に適している(第2章 Short Topics 「生殖器官の進化と MADS-box 遺伝子」参照)。日本産の近縁種ミズワラビの胞子体は秋の干上がった田でよくみかけられる。

シダ植物には、ホルモンによって配偶体の雌雄分化が制御されている種がある。初めに発生した配偶体は大型に育って雌雄両性になる(つまり、造卵器と造精器を両方作る)。そして、アンセリディオゲンというホルモンを分泌して、後から育ってきた周りの配偶体を雄にする。これにより他家受精が促進されると考えられる。アンセリディオゲンの構造は、種にもよるがジベレリンと似ている。リチャードミズワラビから、雌雄の分化に関する突然変異体として、アンセリディオゲン非感受性で常に雌雄両性になる *hermaphroditic*、分裂組織と造卵器形成

### \*26 頂端成長

tip growth. 植物や菌類の細胞伸長のうちで、細胞の一端だけが伸長していく場合をいう。アクチン繊維と分泌小胞が重要な働きをしていると考えられており、花粉管、根毛、コケ・シダの原糸体、カビの菌糸などでみられる。頂端成長に対するのは、細胞全体が肥大する分散成長(diffuse growth)である。

### \*27 性選択

雄クジャクの美しい羽やシカの角といった個体の生存には役に立たないと思われる派手な形質を説明するためにダーウィンが提唱した選択。異性に好まれることによって進化したと考えられる。



図8 リチャードミズワラビの配偶体(前葉体)(口絵39ページ参照)

スケールバーは500 μm。

が異常で雄になる *transformer*, 造精器形成が異常で雌になる *feminization* が報告されている。二重突然変異体を作ること、各遺伝子の上下関係も明らかにされている<sup>41)</sup>。

一方、リチャードミズワラビの大きな問題点は、ゲノムサイズや染色体数が大きいために、突然変異体から原因遺伝子をクローニングするのがきわめて困難なことである。そこで、突然変異体と遺伝子の両者を扱う環境が整ってきているのが、コケ植物のヒメツリガネゴケ\*<sup>28</sup> (*Physcomitrella patens* subsp. *patens*) である<sup>42)</sup>。

大腸菌で細胞分裂に中心的な役割を果たすタンパク質 FtsZ は、真核生物の微小管チューブリンの祖先型と考えられている。ヒメツリガネゴケで FtsZ 相同遺伝子を破壊したところ、葉緑体分裂が異常になった<sup>43)</sup>。このことは、原核光合成生物が真核生物に細胞内共生した後も、同じ分裂メカニズムを維持してきたことを意味する。一方で、ミトコンドリアに異常がないことは、新たな分裂メカニズムを獲得したことを意味する。これから続々とヒメツリガネゴケを用いた遺伝子破壊株が報告されるであろう。

被子植物のうちアブラナ科\*<sup>29</sup> をみただけでも、配偶体は進化的に重要な役割を果たしたかもしれない。アブラナ科のさまざまな植物の花粉をシロイヌナズナの雌ずいに掛け合わせたところ、花粉管が珠孔近くで迷走するという *maa* 突然変異体と同様の表現型がしばしばみられた(清水ら; 投稿中, 未発表)。これは、種間で配偶体のガイダンスシグナル分子に変異が蓄積し、種間不和合性(生殖隔離)をもたらしている可能性を示唆する。多様な種が生まれ共存している機構に迫る1つの突破口になると考えている。ショウジョウバエでみられるように、種分化時に変異が起こる速度が上がっているかなど興味深い<sup>44)</sup>。

配偶体進化の大きな謎は、被子植物の単純な7細胞の雌性配偶体の由来である。あまりにも単純すぎて、ほかの雌性配偶体と比べたとき、どことどこが対応するかわからないのである。重複受精する中央細胞はどんな細胞に由来するのか? 助細胞は、裸

子・シダ植物の頸細胞から来たのか、腹溝細胞から来たのか、まったく新規の構造なのか? こうした疑問は、1950年代までは比較形態学で盛んに議論されていたが、証拠が不足しすぎていて議論が止まってしまった<sup>45)</sup>。数十年たった今、分子遺伝学を用いて各細胞の分化に重要な遺伝子を単離し、その発現・機能を植物間で比較することは夢ではない。動物ではホメオボックス(Hox)遺伝子の単離をきっかけとして、発生生物学と進化生物学の結びついた新しい分野“Evo/Devo”が今まさに起こりつつある<sup>46)</sup>。眼の起源<sup>47)</sup>、翅の起源<sup>48)</sup>、体節数の進化<sup>49)</sup>などについて、少数遺伝子の発現領域の変化で大きな形態進化が起こりうることを示されている。植物においては、花卉の進化<sup>50)</sup>、トウモロコシの栽培化<sup>51)</sup>などに関していくつか先駆的な研究が出ているが、これからの発展を期待したい。

## おわりに

数年前には、シロイヌナズナ研究者のなかでも配偶体の突然変異体はほとんど注目されておらず、報告されていたのはほんの2, 3であった。しかし、今や座位数は100を下らないと思われ、1999年のシロイヌナズナ国際会議で、“配偶体の突然変異体はトレンドだ”という雑談が交わされるほどである。逆に現在の問題は、突然変異体数が多すぎることであろう。初期には、半不稔性や分離ひずみを用いた遺伝学的スクリーニングから、雌性配偶体パターン形成因子や、花粉管ガイダンス因子の突然変異体も得られてくるだろうという楽観的な見方が強かった。しかし、特定の変異体を単離したい場合には、対象を絞ったスクリーニングが求められる。例えば、筆者らは花粉管を直接観察するスクリーニングを行っている。これまでに単離されてきた突然変異体の原因遺伝子のクローニングも、まもなく続々と報告されるであろう。小型ながら陸上植物の進化を濃縮した配偶体の研究が、分子と進化をつなぐ鍵となることを期待している。

\*28 ヒメツリガネゴケ  
ニセツリガネゴケ科のコケ。動物も含めて多細胞生物のなかで数少ない、相同組換えが可能な生物である。これを利用して特定の遺伝子を欠失させた遺伝子破壊株(ノックアウト)を作成することが可能である。

\*29 アブラナ科  
Brassicaceae, cruciferae. シロイヌナズナの属する科。世界に約375属3,200種ある大きな科である。ナズナ、アブラナ、キャベツ、ダイコン、ハタザオ、ワサビなどが属する。

## ◆必読文献

- 1) Wilhelmi, L.K. & Preuss, D.: Current Opinion in Plant Biology 2, 18-22 (1999)
- 2) Drews, G.N., Lee, D. & Christensen, C.A.: Plant Cell 10, 5-17 (1998)
- 3) Gifford, E.M. & Foster, A.S.: Morphology and Evolution of Vascular Plants, W.H. Freeman and Company, New York (1988)
- 4) Gilbert, S.F.: Developmental biology. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts (1997)
- 5) Bhojwani, S.S. & Bhatnager, S.P.: 「植物の発生学: 植物バイオの基礎」, 講談社サイエンティフィク (1995)
- 6) Lush, W.M.: Trends in Plant Sci. 4, 413-418 (1999)

## ◇引用文献

- 1) Maheshwari, P.: An Introduction to the Embryology of Angiosperms, McGraw-Hill, New York (1950)
- 2) 戸部 博: 「植物自然史」, 朝倉書店, 東京 (1994)
- 3) Moore, J.M., Vielle-Calzada, J.-P., Gagliano, W. et al.: Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 62, 35-47 (1997)
- 4) Grossniklaus, U., Vielle-Calzada, J.-P., Hoepfner, M.A. et al.: Science 280, 446-450 (1998)
- 5) Christensen, C.A., Subramanian, S. & Drews, G.N.: Dev. Biol. 202, 136-151 (1998)
- 6) Howden, R., Park, S.K., Moore, J.M. et al.: Genetics 149, 621-631 (1998)
- 7) Feldmann, K.A., Coury, D.A. & Christianson, M.L.: Genetics 147, 1411-1422 (1997)
- 8) Bonhomme, S., Horlow, C., Vezon, D. et al.: Mol. Gen. Genet. 260, 444-452 (1998)
- 9) Grini, P.E., Schnittger, A., Schwarz, H. et al.: Genetics 151, 849-863 (1999)
- 10) Chen, Y.-C. & McCormick, S.: Development 122, 3243-3253 (1996)
- 11) Park, S.K., Howden, R. & Twell, D.: Development 125, 3789-3799 (1998)
- 12) Ray, S.M., Park, S.-S. & Ray, A.: Development 124, 2489-2498 (1997)
- 13) Grossniklaus, U. & Schneitz, K.: Semin. Cell Dev. Biol. 9, 227-238 (1998)
- 14) Schneitz, K., Hülskamp, M. & Pruitt, R.E.: Plant J. 7, 731-749 (1995)
- 15) Springer, P.S., McCombie, W.R., Sundaresan, V. et al.: Science 268, 877-880 (1995)
- 16) Kandasamy, M.K., Nasrallah, J.B. & Nasrallah, M.E.: Development 120, 3405-3418 (1994)
- 17) Tessier-Lavigne, M. & Goodman, C.S.: Science 274, 1123-1133 (1996)
- 18) Heslop-Harrison, J.: International Journal of Cytology 107, 1-78 (1987)
- 19) Cheung, A.Y., Wang, H. & Wu, H.-M.: Cell 82, 383-393 (1995)
- 20) Goodhill, G.J.: Trends Neurosci. 21, 226-231 (1998)
- 21) Heslop-Harrison, J. & Heslop-Harrison, Y.: in: Biology of reproduction and cell motility in plants and animals, Eds. Cresti, M. & Romano, D., pp.169-174, University of Siena Press, Siena, Italy (1986)
- 22) Higashiyama, T., Kuroiwa, H., Kawano, S. et al.: Plant Cell 10, 2019-2031 (1998)
- 23) Wilhelmi, L.K. & Preuss, D.: Science 274, 1535-1537 (1996)
- 24) Zinkl, G.M., Wilhelmi, L.K. & Preuss, D.: J. Plant Res. 111, 299-305 (1998)
- 25) Smyth, D.R.: Curr Biol. 7, R64-66 (1997)
- 26) 高山誠司, 磯貝 彰: 蛋白質核酸酵素 42, 1386-1395 (1997)
- 27) Hülskamp, M., Schneitz, K. & Pruitt, R.E.: Plant Cell 7, 57-64 (1995)
- 28) Snow, A.A. & Spira, T.P.: Nature 352, 796-797 (1991)
- 29) Ohad, N., Margossian, L., Hsu, Y.-C. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 5319-5324 (1996)
- 30) Chaudhury, A.M., Ming, L., Miller, C. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 4223-4228 (1997)
- 31) Kiyosue, T., Ohad, N., Yadegari, R. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 4186-4191 (1999)
- 32) Luo, M., Bilodeau, P., Koltunow, A. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 296-301 (1999)
- 33) Ohad, N., Yadegari, R., Margossian, L. et al.: Plant Cell 11, 407-416 (1999)
- 34) Grossniklaus, U. & Vielle-Calzada, J.-P.: Trends Plant Sci. 3, 328 (1998)
- 35) Kinoshita, T., Yadegari, R., Harada, J.J. et al.: Plant Cell 11, 1945-1952 (1999)
- 36) Twell, D., Park, S.K. & Lalanne, E.: Trends Plant Sci. 3, 305-310 (1998)
- 37) Schiefelbein, J., Galway, M., Masucci, J. et al.: Plant Physiol. 103, 979-985 (1993)
- 38) Li, H., Lin, Y., Heath, R.M. et al.: Plant Cell 11, 1731-1742 (1999)
- 39) Hormaza, J.I. & Herrero, M.: in Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants, Williams, E.G. et al. eds, pp.372-400, Kluwer Academic Publishers (1994)
- 40) Takaso, T. & Owens, J.N.: J. Plant Res. 109, 147-160 (1996)
- 41) Banks, J.A.: Development 120, 1949-1958 (1994)
- 42) Cove, D.J., Knight, C.D. & Lamparter, T.: Trends Plant Sci. 2, 99-105 (1997)
- 43) Strepp, R., Scholz, S., Kruse, S. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 4368-4373 (1998)
- 44) Ting, C.-T., Tsaur, S.-C., Wu, M.-L. et al.: Science 282, 1501-1504 (1998)
- 45) Battaglia, E.: Phytomorphology 1, 87-116 (1951)
- 46) Pennisi, E. & Roush, W.: Science 277, 34-39 (1997)
- 47) Halder, G., Callaerts, P. & Gehring, W.J.: Science 267, 1788-1792 (1995)
- 48) Averof, M. & Cohen, S.M.: Nature 385, 627-630 (1997)
- 49) Carroll, S.B.: Nature 376, 479-485 (1995)
- 50) Kramer, E.M. & Irish, V.F.: Nature 399, 144-148 (1999)
- 51) Doebley, J., Stec, A. & Hubbard, L.: Nature 386, 485-488 (1997)